

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
DOCTORA EN MEDICINA Y MÉDICA CIRUJANA**

**“CONCORDANCIA EN CLASIFICAR LA CALIDAD DE LA  
MUESTRA CERVICOUTERINA CON EL MÉTODO  
BETHESDA POR MEDIO DE LA CITOLOGÍA  
CONVENCIONAL Y LA CITOLOGÍA DE BASE LÍQUIDA  
EN LABORATORIOS AXXIS QUITO EN LOS MESES DE  
NOVIEMBRE Y DICIEMBRE DEL 2010.”**

**DIANA CECILIA CUEVA TELLO**

**DIRECTORA: DRA. SONIA SOTOMAYOR**

**QUITO 2011**

## **AGRADECIMIENTOS:**

A mi directora de tesis, por su confianza y apoyo en cada paso de este proceso.

A mi director metodológico, por su incansable cuestionamiento que ha sacado lo mejor de mí.

A todos los miembros de Laboratorios Axxis Quito, por su apertura e inmensa ayuda.

...A mi madre, simple y sencillamente por TODO.

## CUADRO DE CONTENIDOS:

AGRADECIMIENTOS.....	I
CUADRO DE CONTENIDOS.....	II
LISTA DE TABLAS.....	IV
LISTA DE GRÁFICOS.....	V
LISTA DE FIGURAS.....	V
ABREVIATURAS.....	VII
RESUMEN.....	VIII
ABSTRACT.....	X
CAPITULO I. Introducción.....	1
CAPITULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	
2.1. Breve Epidemiología de las Neoplasias Cervicales.....	6
2.2. Interpretación de la Citología: El Sistema Bethesda.....	7
2.2.1. Historia.....	7
2.2.2. Nomenclatura del Sistema Bethesda 2001.....	8
2.3. Citología Cérvico-Vaginal.....	9
2.3.1. Citología Convencional (CC).....	9
- Instrumentos para la obtención de la muestra.....	9
- Técnica para la toma de la muestra.....	10
- Preparación de la muestra en el laboratorio.....	12

- Análisis e Informe.....	13
- Ventajas de la Citología Convencional.....	14
- Desventajas de la Citología Convencional.....	15
2.3.2. Citología de Base Líquida (CBL).....	16
- Instrumentos para la toma de la muestra.....	16
- Técnica para la toma de la muestra.....	16
- Preparación de la muestra en el laboratorio.....	17
- Análisis e Informe.....	18
- Ventajas de la Citología Convencional.....	19
- Desventajas de la Citología Convencional.....	20
CAPITULO III. Metodología.....	21
CAPITULO IV. Resultados.....	37
Calidad de la Muestra.....	37
▪ Citología de Base Líquida.....	40
▪ Citología Convencional.....	41
Tiempo de Lectura de Laminillas.....	42
▪ Citología de Base Líquida.....	42
▪ Citología Convencional.....	43
▪ Citología Convencional vs Citología de Base Líquida.....	44
CAPITULO V. Discusión.....	46
CAPITULO VI. Conclusiones y Recomendaciones.....	50

BIBLIOGRAFIA.....	52
ANEXOS.....	58

## LISTA DE TABLAS:

Tabla 2.1	Comparación entre las clasificaciones citológicas.....	8
Tabla 4.1	Muestras Satisfactorias e Insatisfactorias según técnica.....	38
Tabla 4.2	Muestras insatisfactorias en CC y CBL según Sistema Bethesda y según observador.....	38
Tabla 4.3	Concordancias y Discordancias en laminillas obscurecidas en CC...	40
Tabla 4.4	Concordancia entre Observadores para CBL.....	40
Tabla 4.5	Concordancia entre Observadores para CC.....	41
Tabla 4.6	Medidas de tendencia central, dispersión y distribución en CBL.....	42
Tabla 4.7	Media según observador y prueba t para CBL.....	42
Tabla 4.8	Medidas de tendencia central, dispersión y distribución en CC.....	43
Tabla 4.9	Media según observador y prueba t en CC.....	43
Tabla 4.10	Media según técnica y prueba t comparando CBL y CC.....	44
Tabla 4.11	Comparación de CBL y CC según Observador.....	45

## LISTA DE GRÁFICOS:

Gráfico 4.1	Proporción de muestras satisfactorias e insatisfactorias en CC y CBL.....	37
Gráfico 4.2	Promedio de tiempo de evaluación en CC y CBL.....	44

## LISTA DE FIGURAS

Fig 1.	Resultado final del procesamiento de laminillas citológicas con CC...	13
Fig 2.	Resultado final del procesamiento de laminillas citológicas con CBL.	18
Fig 3.	Campo 40X CC. Células endocervicales con patrón de “panal de abejas” y “empalizada”.....	26
Fig 4.	Campo 40X CBL. Células endocervicales disociadas cilíndricas con núcleo basal.....	26
Fig 5.	Campo 10X CBL. Celularidad adecuada + cúmulo de células endocervicales + 0% obscurecimiento.....	27
Fig 6.	Campo 40X CBL. Células de metaplasia normales.....	27
Fig 7.	Campo 4X CC. 150 células por campo. Celularidad Adecuada.....	28
Fig 8.	Campo 4X CC. 500 células por campo. Celularidad Adecuada.....	28
Fig 9.	Campo 4 X CC. 1000 células por campo. Celularidad Adecuada.....	29
Fig 10.	Campo 4X CC. 1400 células por campo. Celularidad Adecuada.....	29
Fig 11.	Campo 40X CBL. 11 células por campo. Celularidad Adecuada.....	30
Fig 12.	Campo 40X CBL. 4 células por campo. Celularidad Adecuada.....	30
Fig 13.	Campo 40X CBL. Celularidad escamosa satisfactoria en mujer de 70 años con atrofia celular.....	30

Fig 14.	Campo 4 X CC. Celularidad Inadecuada.....	32
Fig 15.	Campo 40X. Menos de 8 células por campo. Celularidad Inadecuada.	32
Fig 16.	Campo 4X. CC. Muestra insatisfactoria por obscurecimiento >75% por sangre e inflamación (PMN).....	33
Fig 17.	Campo 4X. CC. Muestra insatisfactoria por obscurecimiento >75% por PMN.....	33
Fig 18.	Campo 4X. CC. Muestra insatisfactoria por obscurecimiento >75% por artefacto de técnica tipo desecamiento.....	33
Fig 19.	Campo 4X. CC. Muestra insatisfactoria por obscurecimiento >75% por Actinomyces y PMN.....	33
Fig 20.	Técnica de evaluación de laminillas citológicas.....	34

## **ABREVIATURAS:**

ASC-US:	Células escamosas atípicas de significado indeterminado
AGCUS:	Células glandulares atípicas de significado indeterminado
ASC-H:	Células escamosas atípicas, no se puede descartar una lesión escamosa intraepitelial de alto grado.
CBL:	Citología de base líquida
CC:	Citología convencional
CLIA:	Clinical Laboratories Improvements Act (Acta de Reformas de Laboratorios Clínicos)
CP:	Conventional Preparations (Preparaciones Convencionales)
DAG_stat	Diagnostics and agreement statistics (Estadísticas de diagnóstico y concordancia)
DE	Desviación estándar
FDA:	Federal Drug Association
HPV:	Virus del papiloma humano
IC:	Intervalo de Confianza
LBP:	Liquid based preparations (Preparaciones de base líquida)
LIE-AG:	Lesión intraepitelial escamosa de alto grado
LIE-BG:	Lesión intraepitelial escamosa de bajo grado
NIC:	Neoplasia intraepitelial cervical
NILM:	Negativo para lesión intraepitelial y malignidad
NOS:	Sin especificar
OMS:	Organización Mundial de la Salud
PABAK:	Prevalence and Bias Adjusted Kappa (Kappa ajustado para prevalencia y sesgo)
PMN:	Polimorfonucleares
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences (Paquete estadístico para las ciencias sociales)



## RESUMEN:

La CC es utilizada como método de tamizaje masivo para identificar alteraciones cérvico-vaginales a nivel mundial, sin embargo su baja sensibilidad (51%) y su alta cantidad de falsos negativos se deben en gran medida a una mala técnica en la toma de la muestra. Desde su introducción, la CBL ha mostrado mejorar la calidad de la muestra y disminuir el tiempo de lectura en la citología ginecológica.

**Método:** Se realizó un estudio transversal analítico en los Laboratorios Axxis Quito, para identificar el grado de concordancia entre dos observadores que evaluaron por separado 120 laminillas de CC y 120 de CBL y las calificaron como satisfactorias o insatisfactorias de acuerdo a los parámetros del Sistema Bethesda, paralelamente se tomó el tiempo requerido para evaluar cada laminilla en cada una de las técnicas. Se excluyeron las laminillas provenientes de mujeres que no cumplieran con los parámetros de la *American Cancer Society* para la toma de la muestra de Papanicolaou, así como las muestra de CBL procesadas con método de monocapa distinto a Surepath®, las laminillas rotas, mal identificadas o pobremente rotuladas, las laminillas con tiempo entre la recolección de la muestra y su procesamiento mayor a 60 días para CBL y 5 días para CC, las muestras que hayan pertenecido a citología de muñón vaginal o secreción vaginal y otras CC o de CBL que no sean cervicovaginales.

Para la evaluación de concordancia de los hallazgos entre CBL y CC se empleó el estadístico kappa de cohen y PABAK (programa DAG\_Stat) (51) se utilizó los

intervalos de confianza al 95%. Se identificó además, el parámetro más importante para la insatisfactoriedad de las muestras. El tiempo de lectura de ambos observadores en cada técnica y entre las dos técnicas se analizó mediante la prueba  $t$  utilizando el estadístico SPSS ® (Copyright IBM Corporation 2010. Somers, NY).

**Resultados:** De las 120 laminillas evaluadas en cada técnica, se calificó como satisfactorias a 91,66% en CBL y 58,33% en CC, las insatisfactorias fueron 8,3% y 41,66% respectivamente. Se encontró concordancia moderada al evaluar la calidad de la muestra en CBL ( $k = 0,64$  (IC: 0,35 - 0,93)) y CC ( $k = 0,64$  (IC: 0,47 - 0,77)).

El factor de insatisfactoriedad más importante en CC fue el obscurecimiento por PMN en >75% de la muestra y en la CBL la ausencia de células endocervicales.

Se encontró diferencia significativa entre el tiempo de lectura requerido para evaluar la CBL y CC ( $t = 23,29$  (IC = 63,64 – 75,47)  $p = 0,000$ ). No se observó diferencia significativa entre ambos observadores en la CBL ( $t = 1,77$  (IC = 0,2 – 5,0)  $p = 0,000$ ) en cambio, en la CC si fue significativa ( $t = 2,15$  (IC = 0,7 – 17,8)  $p = 0,000$ ). Se obtuvo una disminución del tiempo de lectura del 39,6% con la CBL.

**Conclusiones:** Se demostró buena concordancia entre los observadores al evaluar la calidad de la muestra en la citología cérvico-vaginal, encontrándose una reducción sustancial en el porcentaje de muestras insatisfactorias en CBL. El

Obscurecimiento por PMN es el factor más importante de insatisfactoriedad en CC. La CBL disminuyó el tiempo de lectura de las laminillas en un 39,6%.

## **ABSTRACT:**

Conventional Pap test (CP) has been used worldwide on the screening for cervical abnormalities on early states. Nevertheless it has shown low sensibility (51%) and high false negative rates, mostly due to a deficient sample technique. Since the introduction of the liquid based preparations (LBP), an improvement has been shown on the quality of cervical smears and also a reduction on the time of each slide's evaluation.

**Methods:** A transversal, analytic study was undertaken at Axxis Laboratories in Quito to identify the concordance among two observers, who evaluated separately 120 smears of CP and 120 smears of LBP and classified each one of them as satisfactory or unsatisfactory according to the Bethesda system. The time required for the evaluation of each slide was also assessed. Exclusion criterion were: slides from women who didn't meet the parameters set by the *American Cancer Society* regarding proper sample technique, also LBP slides processed with a method other than Surepath®, broken, unidentified or not numbered slides, slides processed after more than 60 days for LBP and 5 days for CP, slides containing material other than cervical smears.

The concordance between LBP and CC was assessed by Cohen's kappa and PABAK (DAG\_Stat program) (51), confidence intervals were set at 95%. We also identified the parameter that is most likely to cause unsatisfactory slides on each technique. The slide's evaluation time regarding the technique and afterwards regarding the observer was assessed by a *t* test using SPSS® program (Copyright IBM Corporation 2010. Somers, NY).

**Results:** Out of 120 slides on each technique, 91,66% were satisfactory on LBP and 58,33% on CP; unsatisfactory slides reached 8,3% and 41,66% respectively. We found a good concordance among observers when evaluating the quality of the slides on both techniques ( $k = 0,64$  (IC = 0,35 - 0,93)) y CC ( $k = 0,64$  (IC = 0,47 - 0,77)).

The parameter that was most likely to cause unsatisfactory slides on CP was the obscuring inflammation in >75% of the smear. On LBP was the absence of endocervical cells.

We found a significant difference between the time required to assess LBP and CP slides ( $t = 23,29$  (IC = 63,64 – 75,47)  $p = 0,000$ ), and also among both observers on CP ( $t = 2,15$  (IC = 0,7 – 17,8)  $p = 0,000$ ). There was no significant difference among the observers on LBP ( $t = 1,77$  (IC = 0,2 – 5,0)  $p = 0,000$ ). We established a reduction of 39,6% on the slide's evaluation time for LBP.

**Conclusion:** We demonstrated good concordance among the observers when evaluating the quality of cervical smears, showing a substantial reduction on the percentage of unsatisfactory slides on LBP. Slides obscured by inflammation are the most common unsatisfactory finding. LBP showed a cutback on the slide's evaluating time by 39,6%.

# **CAPITULO I:**

## **INTRODUCCIÓN:**

Desde la introducción del frotis propuesto por George Nicholas Papanicolaou en 1940 (1) mediante el cual se busca analizar las características morfológicas de las células recolectadas del cuello uterino y vagina, la detección de cáncer cérvico uterino en etapas precoces y de lesiones premalignas ya no supone un objetivo difícil de alcanzar.

Es así que desde su implementación, la incidencia y mortalidad por cáncer de cérvix han disminuido significativamente a nivel mundial, particularmente para las mujeres de los países desarrollados donde se dispone de programas masivos de salud en la población (2).

Sin embargo, se estima que la mortalidad por cáncer cérvico-uterino es de 500.000 muertes al año en todo el mundo. En países en vías de desarrollo, su incidencia llega hasta 40 por 100.000 mujeres (3). Según datos de la *Unión Internacional Contra el Cáncer*, cada año se diagnostican mundialmente doce millones de casos y se calcula que en el 2030 habrá 26 millones de nuevos casos y 17 millones de muertes con un gran impacto en los países en vías de desarrollo (4, 5).

El frotis de papanicolaou o citología convencional (en adelante CC) es utilizado como método de tamizaje masivo pero tiene algunas desventajas, entre ellas la más importante, son sus altas cifras de falsos negativos y positivos. Según la *Agency for Health Care Policy and Research* la sensibilidad en la población general llega a ser solamente del 51% (IC del 95%: 37-66) y la especificidad del 98% (IC del 95%: 97-99) (6). En la literatura se describen proporciones de falsos negativos para cáncer invasor y para neoplasias intraepiteliales, que varían entre 50 y 70% (7).

Existen reportes en los que se estima que hasta dos terceras partes de los falsos negativos se deben a limitaciones en la toma de la muestra. Esto se debe a que luego de la recolección de la muestra y por una mala técnica de extensión, sólo un 20% de células cervicales se transfieren a la laminilla siendo eliminado un 80% de células no transferidas entre las que puedan estar las células para de establecer la correcta valoración.(8, 9).

Para contrarrestar este problema se han desarrollado varias técnicas que permitan mejorar la calidad de la muestra y así minimizar los errores al momento del diagnóstico, entre estas técnicas se encuentra la citología de base líquida (en adelante CBL).

Aprobada por la FDA en 1996, la CBL consiste en recolectar la muestra de forma similar a la del método convencional, pero en lugar de extenderlo directamente sobre la laminilla, se introduce en un vial que contiene un líquido conservante. La

muestra se transporta al laboratorio, donde se somete a un proceso de homogeneización, dispersión y filtración para finalmente transferir las células a la laminilla y así crear una monocapa celular representativa (10).

La preparación es evaluada por un patólogo de forma usual y en el vial queda material celular para eventualmente, repetir el extendido o aplicarle técnicas de inmunocitoquímica, biología molecular, etc.

Debido a que los elementos celulares no sufren distorsión por la presión a la que se someten en los extendidos convencionales, además de que se eliminan las células inflamatorias y el moco, la CBL en teoría resuelve los cinco problemas del Papanicolaou convencional: 1) captura de la totalidad de la muestra, 2) fija eficientemente, 3) distribuye aleatoriamente de células anómalas, 4) disminuye la existencia de elementos perturbadores, y 5) calidad del frotis (8).

La mejora en la calidad de la muestra es evidente con la CBL, sin embargo existe poca bibliografía que documente estos hallazgos. En un estudio prospectivo se compara la cantidad de muestras satisfactorias y no satisfactorias entre la CBL y la CC en varios observadores, obteniéndose resultados que indican un porcentaje de muestras no satisfactorias de 1,8% para la CBL y de 3,1% para la CC, resultado que no es dependiente de los años de experiencia de los observadores (11).



Williams, et al. ha reportado una caída en el porcentaje de muestras no satisfactorias desde la implementación de esta nueva técnica de un notorio 13.9% con la CC a un 1.9% con la CBL (12). Este mismo autor reporta que el tiempo de evaluación utilizando esta técnica ha disminuido aproximadamente en un 40%.

Existe gran cantidad de estudios y metaanálisis que comparan la CBL y la CC basándose en su sensibilidad y especificidad como métodos diagnósticos, atribuyéndole superioridad a la CBL para identificar lesiones de alto y bajo grado (13, 14, 15). No obstante, debido a la limitada cantidad de estudios centrados específicamente en el tiempo de lectura y la calidad de la muestra, es importante realizar una comparación entre las dos técnicas ya que, especialmente esta última, es tal vez el parámetro más importante para la detección oportuna del cáncer cérvico uterino.

Este estudio busca comparar la concordancia al clasificar la calidad de la muestra cervicouterina con el método Bethesda por medio de la CC y la CBL en los Laboratorios Axxis Quito. Como objetivos secundarios, busca comparar el tiempo empleado en la lectura de las laminillas evaluadas con cada técnica y posteriormente definir el parámetro de insatisfactoriedad más usual tanto en CC como en CBL.

De este modo probaremos o desaprobaremos nuestra hipótesis que propone que el método de CBL identifica mejor la calidad de la muestra en los frotis de citología

cervicouterina que la CC, y que el tiempo de lectura en la CBL disminuye en un 40% comparado con el tiempo de lectura de la CC.

## **CAPITULO II:**

### **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA:**

#### **2.1.- Breve Epidemiología de las Neoplasias Cervicales**

Según los datos de GLOBOCAN 2008, (un proyecto en línea de la OMS que provee datos estadísticos actualizados sobre la situación del cáncer a nivel mundial y nacional), el carcinoma cérvico-uterino es la segunda neoplasia femenina más frecuente en el mundo, con una incidencia de 15.3 por 100.000 mujeres, sobrepasado solamente por el cáncer de mama y seguido de cerca por el cáncer colonorectal. En la población general ocupa el séptimo lugar. Con respecto a la mortalidad se ubica en el tercer puesto a nivel mundial con cifras de 7.8 por 100.000 mujeres (16, 17) demostrando ser, un importante problema de salud que requiere métodos de tamizaje eficaces para identificarlo en etapas precoces.

La *Unión Internacional Contra el Cáncer*, publicó que se han diagnosticado mundialmente doce millones de nuevos casos por año y se calcula que en el 2030 habrá 26 millones de nuevos casos y 17 millones de muertes (4, 5).

Lastimosamente, la distribución de incidencia y mortalidad no son uniformes en el mundo ya que 80 al 88% de los casos mencionados ocurren en países en vías de desarrollo (18).

## **2.2. Interpretación de la Citología: El Sistema Bethesda**

### **2.2.1. Historia:**

Desde que se detectó la gran gama de anormalidades cervicales hasta su nomenclatura clara y precisa utilizada en la actualidad se ha requerido largo tiempo. Las publicaciones de Papanicolaou en 1954, James Reagan en 1957 y Ralph Richard en 1968, modificaron poco a poco la terminología para eliminar confusiones (19).

Debido a la mala reproductibilidad entre observadores de la nomenclatura utilizada hasta ese entonces, el *National Cancer Institute* auspició una reunión en Bethesda, Maryland, USA, en 1988, con el objetivo de revisar esta terminología para informar los resultados de la citología cérvico-vaginal y en consenso se determinó (20, 21):

- Descartar el sistema de clases de Papanicolaou.
- Eliminar la categoría de displasia moderada o NIC 2.
- Dividir a las lesiones escamosas intraepiteliales en alto y bajo grado (LIE-AG y LIE-BG).

Gracias a la menor cantidad de categorías diagnósticas mejoró la reproductibilidad interobservador y el posterior manejo de acuerdo al diagnóstico histopatológico.

TABLA 2.1: Comparación entre las clasificaciones citológicas (20).			
PAPANICOLAOU	DESCRIPTIVA	NIC	BETHESDA
1954	1968	1978	1988
Clase 1	Negativo	Negativo	Negativo para lesión intraepitelial y malignidad (NILM)
Clase 2	<u>Atipia Escamosa</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>Reactivo</li> <li>Sin especificar</li> <li>Atipia coilocitótica</li> </ul>	<u>Atipia Escamosa</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>Reactivo</li> <li>Sin especificar</li> <li>Atipia coilocitótica</li> </ul>	Cambios Reactivos  LIE-BG
Clase 3	<u>Displasia</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>Leve</li> <li>Moderada</li> <li>Severa</li> </ul>	<u>NIC</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>NIC 1</li> <li>NIC 2</li> <li>NIC 3</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>LIE-BG</li> <li>LIE-AG</li> </ul>
Clase 4	Carcinoma In Situ	NIC 3	LIE-AG
Clase 5	Carcinoma Invasor	Carcinoma Invasor	Carcinoma Invasor

### 2.2.2. Nomenclatura del Sistema Bethesda 2001:

Se ha propuesto un esquema para la redacción del informe en las laminillas de citología tanto convencional como de base líquida el cual se basa en parámetros estrictos de calidad y contenido de la muestra.

Tanto la nomenclatura como el análisis con respecto a la calidad de la muestra se detallarán en el capítulo de metodología de nuestro estudio.

## **2.3.- Citología Cervico-Vaginal**

El término “citología” se refiere al estudio de células individuales que pueden provenir de la descamación de superficies epiteliales, de líquidos corporales u obtenidas mediante aspiración con aguja, con el fin de detectar anormalidades morfológicas.

La citología cervical o cérvico-vaginal, se centra en el estudio de las células exfoliadas de la unión escamo columnar del cuello uterino y su principal objetivo es buscar lesiones epiteliales en relación con el cáncer cérvico uterino.

### **2.3.1. Citología Convencional:**

#### ***A. Instrumentos para la obtención de la muestra:***

Los instrumentos más utilizados para la toma de la muestra cérvico-uterina son la espátula y el cepillo endocervical. Existe gran variedad de espátulas, las más conocidas son la de Ayre y la Aylesbury pero su mayor inconveniente radica que su material (madera) dificulta el correcto traspaso de las células a la laminilla (22, 23).

El uso de los cepillos endocervicales se acepta desde 1990 (24) su estructura consta de una cabeza con fibras de nailon maleables que permiten llegar al endocervix y cuyo material impide que las células se adhieran al cepillo, sin embargo pueden causar molestias por ser un tanto rígidas y producir leve traumatismo en la mucosa (23).

Una revisión sistemática de Cochrane identificó varios estudios clínicos controlados aleatorizados en los que se investigó la utilización de 16 instrumentos para recolección de frotis cérvico-vaginal (23) y encontraron que:

- ❖ Las espátulas de Aylesbury, son mejores para obtener células endocervicales que la espátula clásica de Ayre.
- ❖ La mejor manera de recoger la muestra es la combinación de citocepillo y espátula de Aylesbury.
- ❖ En las mujeres posmenopáusicas los mejores instrumentos para obtener células de la zona de transformación que ha migrado y del epitelio columnar son los mismos que para mujeres en edad fértil.
- ❖ Al utilizar dispositivos que recogen mejor las células endocervicales es menos probable la obtención de frotis inadecuados.

**B. *Técnica para la toma de la muestra:***

La correcta toma de la muestra por el médico clínico es esencial para la evaluación posterior del médico patólogo.

Es importante llenar sin equivocaciones y en su totalidad la solicitud de examen citológico cérvico-uterino y constatar que la rotulación tanto de la laminilla como de la solicitud del examen sean las correspondientes.

Es necesario explicar el procedimiento a la paciente, el objetivo y la duración del mismo y continuar con la técnica correcta para la toma de la muestra cérvico-uterina que se resume a continuación (25):

- ❖ Lavarse las manos con agua y jabón y colocar a la paciente en posición para examen ginecológico, luego de lo cual se coloca con cuidado el espéculo vaginal.
- ❖ Introducir la espátula de Ayre/Aylesbury colocando el extremo más largo en el orificio cervical y, con éste como eje, rotar la espátula 360° para recoger las células de la zona de transición e inmediatamente extender la muestra sobre la mitad de la laminilla realizando un extendido uniforme sin grumos.
- ❖ Al utilizar el citocepillo, introducirlo con cuidado no más de 1,5 cm. dentro del orificio cervical externo y rotar 90 y 180°. Inmediatamente se lo hace rodar sobre la otra mitad de la superficie del cristal presionando ligeramente las cerdas.
- ❖ La laminilla debe ser fijada en cuestión de segundos con el fijador adecuado (alcohol al 95%) para impedir la desecación de las células.
- ❖ Cerrar y extraer el espéculo de manera suave.

Una mala toma de la muestra origina problemas al momento del diagnóstico por capturar insuficiente o excesiva cantidad de células y transferirlas a la laminilla de forma apelotonada y densa, o por producir



contaminación del frotis con elementos perturbadores tales como moco o sangre que dificultaría la identificación de anormalidades celulares potencialmente cancerosas.

Es clave la fijación inmediata del frotis, de lo contrario se produce desecación y degeneración celular con lo cual se distorsiona la morfología (7). Por otro lado, si el fijador no es el adecuado para el método de tinción, se pierde la permeabilidad de la barrera celular y la tinción será pobre o nula o incluso puede impedir la adhesión celular a la laminilla y perderse durante el proceso en el laboratorio.

Es por estas razones que la recolección, transferencia y fijación adecuadas de la muestra en la laminilla son fundamentales porque es, durante este proceso, donde se producen más de la mitad de los errores que impiden los diagnósticos fidedignos de las alteraciones cérvico-uterinas.

### ***C. Preparación de la muestra en el laboratorio:***

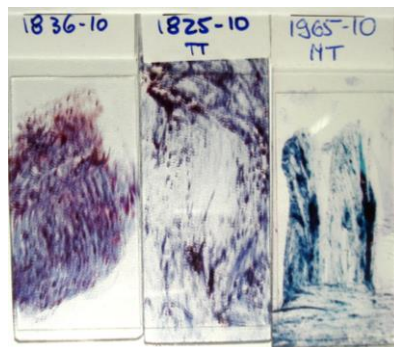
El paso final para la preparación de la CC es enteramente realizado en el laboratorio. Se debe constatar tanto los datos de la paciente como la integridad de cada laminilla recolectada (26).

Luego de asignarles un número de referencia se inicia el proceso de tinción, montaje y etiquetado para que puedan ser enviadas a su evaluación por parte del médico patólogo.

Se utiliza la tinción de Papanicolaou cuya ventaja más importante es la gran definición del detalle nuclear con lo que se puede observar incluso el patrón de cromatina; además le da al citoplasma un aspecto transparente que permite apreciar los grados de diferenciación celular y la actividad metabólica (26).

El resultado será:

Fig. 1 Resultado final del procesamiento de laminillas citológicas.



#### **D. *Análisis e informe:***

Finalmente, la laminilla es entregada al médico patólogo para que emita su informe, el cual debe regirse a la nomenclatura estándar determinada por el *Nacional Cancer Institute* en el Sistema Bethesda 2001 (24) y debe figurar:

- Tipo de muestra.
- Valoración de la muestra como adecuada o inadecuada.
- Una interpretación descriptiva que indique si se realizó un estudio automatizado y los resultados del mismo
- Descripción de posibles pruebas complementarias realizadas y su resultado.

La técnica correcta de la lectura de las laminillas se detalla en el capítulo de metodología de nuestro estudio.

Es importante que las laminillas en las que se identifique anormalidades celulares sean marcadas con un punto o un círculo en el sitio de alteración y observar esas áreas, con campos de mayor aumento para identificar los detalles.

Los resultados deben ser entregados al paciente en sobre cerrado o si es posible enviados directamente al médico clínico para evitar especulaciones por parte del paciente.

#### ***E. Ventajas de la Citología Convencional:***

- ❖ Posibilidad de implementación masiva por su bajo costo y fácil acceso, además por ser ampliamente difundido y reconocido como técnica de tamizaje a gran escala.

- ❖ Capacidad diagnóstica con especificidad del 98% (7).
- ❖ Su implementación a lo largo de los años ha reducido la incidencia y mortalidad por cáncer de cérvix en la población mundial.

***F. Desventajas de la Citología Convencional:***

- ❖ Capacidad diagnóstica con sensibilidad de solo 51% (7). Se han documentado casos que inicialmente se calificaron como “cuestionables” y tuvieron un valor predictivo positivo de tan solo el 64% (38) e incluso se ha llegado a describir proporciones de falsos negativos para Ca invasor y para neoplasias intraepiteliales, que varían entre 0 y 70% (7, 27).
- ❖ Al realizar la toma de la muestra, se estima que se recoge entre 600.000 y 1,2 millones de células epiteliales cervicales en la espátula de Ayre pero se transfiere la laminilla menos del 20% (7), existe literatura que aporta rangos tan bajos como el 10% (27).
- ❖ El traspaso de células depende sobremanera de la técnica utilizada, como se explicó anteriormente, la cantidad de presión ejercida sobre la laminilla, el material de la espátula y el tiempo que transcurra antes de la fijación son factores difíciles de controlar en la práctica rutinaria. Por lo tanto se puede decir que existe una transferencia aleatoria de las células sobre la laminilla y que se encuentra sujeto a error si las células anormales no se distribuyen de forma homogénea.

- ❖ Es difícil controlar el obscurecimiento de la muestra por moco, sangre u otros elementos perturbadores que limitan la evaluación adecuada de la laminilla.
- ❖ En la literatura se describe que los errores durante la toma de la muestra de la CC son responsables por el 93% de los falsos-negativos (28).

### **2.3.2. Citología de Base Líquida:**

Aunque la idea surge a inicios del año 1900 no fue hasta mayo de 1996 que la FDA aprueba el uso de Papanicolaou ThinPrep™ (Cytoc Corporation Boxborough, MA) (7), y en junio de 1999 el uso de SurePath™ (AutoCyte™) (TriPath Imaging, Inc Burlington, North California) como técnicas de base líquida para muestras citológicas.

#### ***A. Instrumentos para la toma de la muestra:***

El kit de CBL viene compuesto por:

- Cepillo para toma de muestra endo y exocervical.
- Vial de transporte.

El cepillo más utilizado para la toma de muestra endo y exocervical para la CBL es el cervical-examination brush de las marcas Cervexbrush® y Cervexmex®. En nuestro estudio se utilizó el cepillo Cervexbrush.

#### ***B. Técnica para la toma de la Muestra:***

Al igual que en la CC, la solicitud del examen, así como la correcta rotulación de éste y de la laminilla que será utilizada son muy importantes. De

igual manera se debe explicar el procedimiento a la paciente, el objetivo y la duración del mismo y proceder con la técnica correcta para la toma de la muestra cérvico-uterina para CBL. El procedimiento es, en esencia, igual que en la CC hasta antes de introducir el cepillo endocervical. En este punto se realiza lo siguiente (29,30):

- ❖ Las fibras más largas del cepillo se insertan en el canal endocervical.
- ❖ Manteniendo una suave presión, se gira el cepillo cinco veces en sentido de las agujas del reloj, si la paciente es mayor de 50 años debe girar el cepillo 8-10 veces.
- ❖ Se introduce el cepillo tal como esté en el interior del vial con el líquido preservante y se deberá romper o desmontar a nivel de la unión entre la cabeza y la varilla del cepillo para depositar la cabeza dentro del vial.
- ❖ Cerrar el vial con la respectiva tapa ajustando completamente.

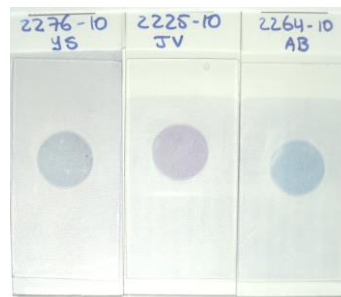
### ***C. Preparación de la muestra en el laboratorio:***

Luego de asignarles un número de referencia, se inicia el procesamiento de los viales, la tinción, montaje y etiquetado para que las laminillas puedan ser enviadas a su evaluación por parte del médico patólogo.

Los dos métodos básicos de procesamiento son transferencia celular y centrifugación, los resultados son similares y mantienen las propiedades de proporcionalidad celular dispuestas en una fina capa, con escasa superposición celular y significativa disminución de elementos de obscurecimiento (31).

El resultado final es un botón de 13 mm de diámetro (SurePath) o 20mm de diámetro (ThinPrep) con células dispersas en monocapa y con mínima o nula cantidad de obscurecimiento.

Fig 2 Resultado final del procesamiento de laminillas citológicas con CBL



La tinción de Papanicolaou y el montaje posterior para la CBL son las mismas que se detallaron en la CC.

#### **D. Análisis e Informe:**

La técnica de evaluación es igual que en la CC y se ha especificado en la metodología de nuestro estudio.

#### **E. *Ventajas de la Citología de Base Líquida:***

- El vial líquido fija de inmediato la muestra obtenida, lo cual realzará los detalles del núcleo y del citoplasma.
- El cepillo especial para la toma de muestra y el vial líquido permiten que todo el material obtenido se encuentre disponible para evaluación microscópica puesto que transfiere el 100% de las células al vial.
- El material del vial puede ser utilizado para preparar múltiples muestras inmediatamente o conservarse para estudios adicionales como pruebas para determinación de HPV sin tener que molestar a la paciente con una nueva toma de muestra.
- A temperatura ambiente (2° C a 30° C) puede conservarse hasta por 60 días y refrigerada (2° C a 10° C) por 6 meses, lo que facilita el traslado de la muestra desde lugares alejados sin perder la calidad de la muestra (32).
- El fondo del campo es limpio, disminuyendo casi por completo el obscurecimiento por parte de moco, sangre o PMN (12), visualizando en detalle las células y sus características para un mejor diagnóstico.
- El área a ser evaluada es pequeña (diámetro: 13mm) por lo que su análisis toma menos tiempo que en la CC, la literatura expresa de 30 a 40% de reducción en el tiempo de evaluación de la muestra (33).
- Disminuyen significativamente los casos 'no satisfactorios', existe literatura que reporta disminución de 13% a 1,9% (12) reduciendo así, repeticiones innecesarias de la prueba o resultados dudosos.



#### ***F. Desventajas de la Citología de Base Líquida***

- Es más costosa que la CC.
- Aunque la toma de la muestra es más fácil y rápida se requiere reentrenar a tecnólogos y patólogos para familiarizarlos con esta técnica en lo que respecta a la recogida de la muestra, el procesamiento y la lectura según los parámetros del Sistema Bethesda.
- Las células endocervicales y de metaplasia pueden aparecer aisladas y ligeramente más pequeñas que en los frotis convencionales.
- La preparación de la laminilla en el laboratorio toma mayor tiempo que la CC.

### **CAPITULO III:**

#### **METODOLOGÍA:**

Se realizó un estudio, transversal analítico (34, 35) en el que se comparó el grado de concordancia entre la CC y la CBL con respecto a la calidad de la muestra y secundariamente se evaluó el tiempo empleado en la lectura de las laminillas por cada observador en el Laboratorio Axxis Quito.

La muestra fue calculada mediante la fórmula (36): 
$$n = (DE)^2 * \frac{(p(1-p))}{(e)^2}$$

Donde p = proporción, DE = Desviación estándar (1,96) y e = error (0,05). Obtuvimos así, un resultado de 120 muestras requeridas para cada una de las técnicas.

A continuación, se utilizó la herramienta generadora de números aleatorios de Microsoft® Excel 2002 para seleccionar 25 laminillas del total de cada semana. Se obtuvo, tras un intervalo de 6 semanas en los meses de noviembre y diciembre del 2010, un universo de 120 laminillas de CC y 120 laminillas de CBL.

Se descartó del estudio:

- Las laminillas rotas, mal identificadas o pobremente rotuladas independientemente de la técnica
- Laminillas que tuvieron un intervalo de tiempo entre la recolección de la muestra y su procesamiento mayor a 60 días para CBL y 5 días para CC.

- Muestras que fueron obtenidas de muñón vaginal o secreción vaginal así como cualquier otra CC o de CBL que no fuera cérvico-vaginal.
- Muestras de CC procesadas con una tinción diferente a la de Papanicolaou.
- Muestras de CBL recogidas en viales diferentes a SurePath™ (TriPath Imaging, Inc Burlington, North California).
- Muestras de CBL cuyos viales previo su procesamiento (32):
  - Fueron congelados o expuestos a temperaturas mayores de 30°C.
  - Contuvieran material para análisis en su interior por más de 4 semanas a temperatura ambiente SurePatho más de 6 meses en refrigeración (2° C a 10° C).
  - Mostraran fecha de caducidad vencida
  - Estuvieran abiertos.

Además fueron excluidas del estudio las mujeres que, al momento de realizarse el examen, no cumplieran con los requerimientos internacionales para la realización del Test de Papanicolaou recomendados por la *American Cancer Society* (24) que detallamos a continuación:

- ❖ El estudio debió realizarse 2 semanas (10-18 días) después del primer día de la última menstruación de la paciente.

- ❖ No debe haberse realizado duchas vaginales durante las 48 horas previas a la toma de la muestra.
- ❖ No haber usado tampones, espumas anticonceptivas, gelatinas u otras cremas o medicamentos vaginales durante las 48 horas previas a la toma de la muestra.
- ❖ Abstinencia de relaciones sexuales durante las 48 horas previas a la toma.

No existe un consenso con respecto a la frecuencia del examen cérvico-uterino, entidades como la *Sociedad Española de Citología* y la *Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia*, desde el 2003, recomiendan el examen citológico se inicie a los 25 años de edad en todas las pacientes mujeres y que los controles subsecuentes deberían realizarse cada 3-5 años hasta los 65 años.

La *American Cancer Society* en el 2005 recomendó una citología inicial durante los 3 primeros años del inicio de las relaciones sexuales o a los 21 años en mujeres con o sin actividad sexual, de acuerdo a los resultados obtenidos, propone: control anual si es con CC y cada 2 o 3 años si es con CBL (24).

En nuestro estudio se aceptó cualquiera de estos esquemas, siendo responsabilidad del médico ginecólogo o general informar a todas sus pacientes sobre el examen citológico, los tipos que existen, ventajas, desventajas, etc, y finalmente, proponer un esquema de acuerdo a las revisiones bibliograficas, la epidemiología

existente en su lugar de trabajo, los recursos con los que cuenta, las posibilidades económicas de sus pacientes y a su experiencia.

Las laminillas obtenidas, fueron mimetizadas al momento de su entrega al laboratorio mediante el sistema de numeración propio de éste último. Después de verificar los criterios de inclusión y exclusión de cada laminilla se procedió a mimetizar por segunda vez el nombre de las pacientes con una nueva numeración para fines de este estudio. Gracias a la doble mimetización no se requirió obtener el consentimiento informado de las pacientes (37).

Cada laminilla fue evaluada de manera ciega por dos observadores siguiendo el formulario específico diseñado para este estudio (Anexo 1 y 2) que calificó como existentes o no existentes los parámetros de satisfactoriedad de una muestra citológica establecidos por el Sistema Bethesda y detallados a continuación (20, 24, 38)\*:

a) *Tipo de la Muestra:*

- Citología Convencional.
- Citología de Base Líquida.
- Otro tipo de Citología.

---

\* Se detalla solamente los parámetros de tipo de muestra y calidad de la muestra que son los que le competen a nuestro estudio, si se requiere conocer los demás parámetros del Sistema Bethesda, sugerimos referirse a los textos citados.

*b) Calidad de la Muestra:*

- Satisfactoria para la evaluación: Se explicó los indicadores de satisfactoriedad presentes.
- Insatisfactoria para evaluación: Se especificó el motivo en cualquier caso.
  - Muestra rechazada o no procesada (se especificó motivo).
  - Muestra procesada y examinada pero insatisfactoria para la evaluación de anomalías epiteliales debido a... (se explicó el motivo).

**Detalles sobre la Calidad de la Muestra:**

Anteriormente se consideraban tres categorías de calidad: “satisfactoria”, “insatisfactoria” y “satisfactoria pero limitada por...” Esta última denominación fue eliminada en el Sistema Bethesda 2001 y no debe usarse debido a la gran confusión que generaba entre los médicos tratantes en cuanto al seguimiento de las pacientes y por la variabilidad en la redacción de los informes por parte del médico patólogo (19). Por estas razones y siguiendo los lineamientos del Sistema Bethesda, las laminillas en nuestro estudio se calificaron exclusivamente como: “satisfactoria” o “insatisfactoria” según el caso:

**MUESTRA SATISFACTORIA:**

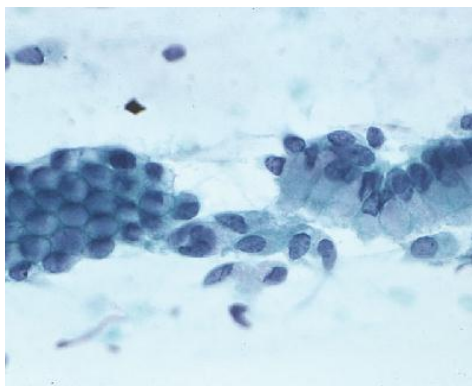
Para que una muestra citológica fuera catalogada como satisfactoria, debió cumplir con TODOS los siguientes parámetros (20, 38):

1. Presencia de células endocervicales o de la zona de transformación:

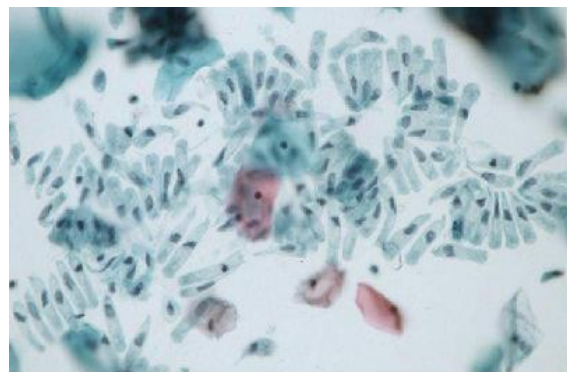
Tanto en CBL como en CC se requirió identificar al menos 10 células endocervicales o de metaplasia bien conservadas y visibles, aisladas o en grupos. La identificación de las células endocervicales verificó que la muestra fue obtenida de la zona de transformación.

Se discutió con los patólogos el hallazgo de este tipo de células en cada técnica, llegando a la conclusión de que en la CC se identificarían arregladas en patrones tales como “panal de abejas” o en “empalizada”, mientras que, en la CBL presentarían tendencia a disociarse; sin embargo, mantendrían siempre las características morfológicas cilíndricas con núcleo basal.

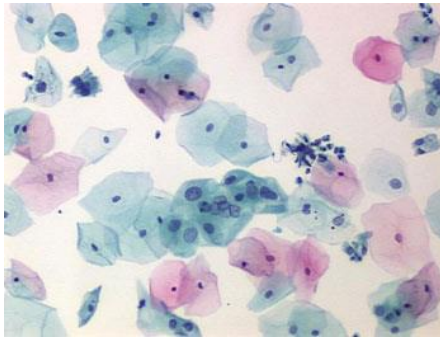
Ejemplos:



*Fig 3 Campo de 40X Citología Convencional*  
Células endocervicales con patrón de “panal de abejas”(izq) y “empalizada”(der)



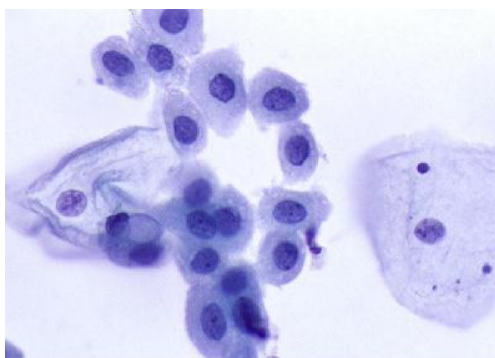
*Fig 4 Campo de 40X Citología de Base Líquida*  
Células endocervicales disociadas cilíndricas con núcleo basal.



*Fig 5 Campo 10X Citología de Base Líquida*  
 Celularidad adecuada + cúmulo de células endocervicales +  
 0% obscurecimiento.

Si hubiera existido dificultad para diferenciar las células parabasales de las metaplásicas en los extendidos atrófico debido a varios cambios hormonales como menopausia, postparto y tratamientos con progesterona, el patólogo podría haber agregado un comentario sobre esta dificultad.

Fueron consideradas como células metaplásicas normales aquellas con forma poligonal, núcleo redondo u oval y patrón de cromatina blando. En la CBL pudieron identificarse más redondas y con núcleos pequeños.



*Fig 6 Campo 40X Citología de Base Líquida*  
 Células de metaplasia normales.



## 2. Celularidad adecuada (8.000-12.000 en CC y 5.000-20.000 en CBL)

La cantidad de células en el extendido se aplicó solo a células escamosas bien visibles, es decir se excluyó del cálculo a las células endocervicales y escamosas obscurecidas. Las células metaplásicas fueron incluidas en el cálculo (20).

### CITOLOGÍA CONVENCIONAL:

Se requirió identificar 8.000 a 12.000 células epiteliales escamosas bien conservadas y claramente observables. La contabilización celular en la CC se realizó con el lente de 10X y mediante un cálculo estimativo de las células por campo, utilizando imágenes de referencia estudiadas por los patólogos y comparadas con las muestras analizadas.

Ejemplos (imágenes de referencia):

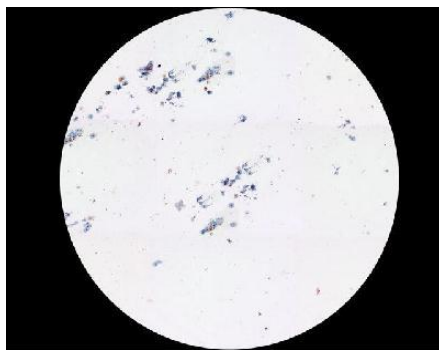


Fig 7 Campo de 4X con aprox 150 células escamosas bien conservadas y visibles. Si todos los campos se muestran iguales la celularidad será adecuada.

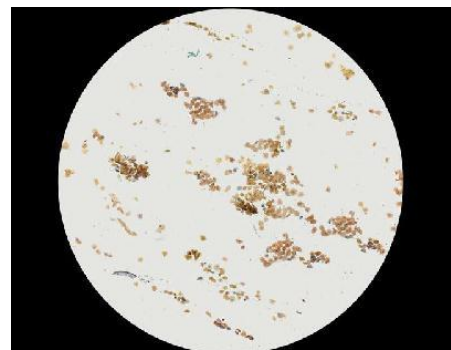


Fig 8 Campo de 4X con aprox 500 células escamosas bien conservadas y visibles. Se requerirá mínimo 16 campos iguales a este para tener celularidad adecuada

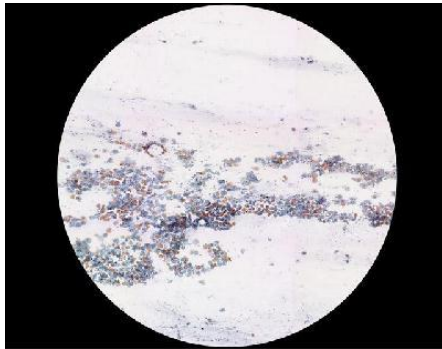


Fig 9 Campo de 4X con aprox 1.000 células escamosas bien conservadas y visibles. Se requerirá mínimo 8 campos iguales a este para tener celularidad adecuada

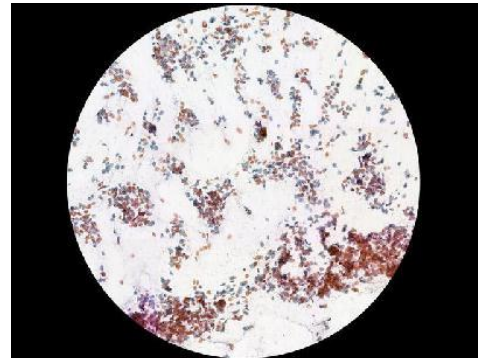


Fig 10 Campo de 4X con aprox 1.400 células escamosas bien conservadas y visibles. Se requerirá mínimo 6 campos iguales a este para tener celularidad adecuada

Otros esquemas de referencia pueden encontrarse en el Anexo 4.

#### CITOLOGÍA DE BASE LÍQUIDA:

Se requirió identificar 5.000 a 20.000 células epiteliales escamosas bien conservadas y claramente observables.

En la CBL no se utilizó imágenes de referencia para calcular la celularidad puesto que ésta depende siempre del diámetro del extendido (botón) y del ocular empleado en la evaluación. Para calcular el mínimo de células que debieron existir por campo para obtener 5.000 células en el extendido se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Cels x campo} = \frac{5.000}{\text{área extendido/área de campo}}$$

Surepath produce un extendido de 13mm de diámetro, por lo tanto, utilizando el lente de 10X, el patólogo debió buscar al menos 120 células en los 42 campos del extendido para obtener el número mínimo requerido para una celularidad adecuada. Con un lente de 40X debería haber encontrado mínimo 8 células por campo.

Ejemplos (no son imágenes de referencia):

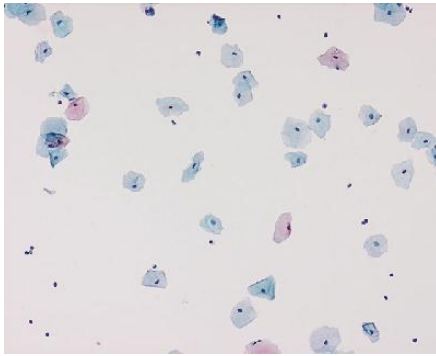


Fig 11 Campo de 40X con aprox 11 células escamosas bien conservadas y visibles. Si se encuentran 5 campos iguales a este sería celularidad adecuada.

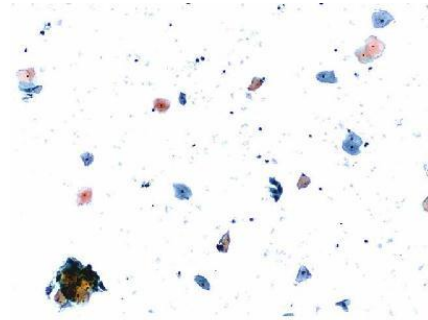


Fig 12 Campo de 40X con aprox 4 células escamosas bien conservadas y visibles. Se requerirá mínimo 10 campos iguales a este para tener celularidad adecuada

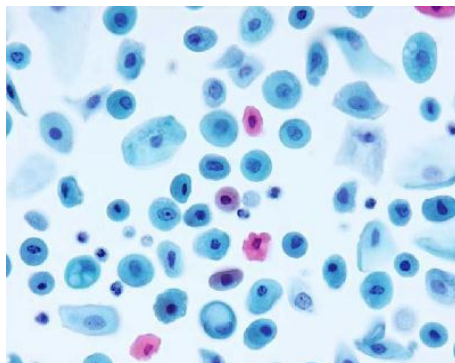


Fig 13 Celularidad escamosa satisfactoria en mujer de 70 años con atrofia celular.

Los lineamientos para calcular la celularidad en CBL se explican en la Tabla A1 (Anexo 3).

3. Obscurecimiento en <75% del extendido.

Los criterios de obscurecimiento se aplicaron tanto en CC como en CBL.

Lo ideal sería, que el extendido se encontrara obscurecido en una mínima o nula proporción. Cuando entre 50% a 75% de las células no fueron claramente visibles ya sea por la presencia de polimorfonucleares (PMN), moco, sangre o artefactos de la técnica, la laminilla se calificó como satisfactoria pero es fue preciso aclarar que la celularidad estaba parcialmente cubierta.

Se evaluó el porcentaje de células obscurecidas, más no el área cubierta del extendido.

La citólisis no fue criterio de insatisfactoriedad excepto que casi todos núcleos del extendido carecieran de citoplasma.

## **MUESTRA INSATISFACTORIA:**

Se calificaron como insatisfactorias aquellas muestras citológicas que no cumplieron con TODOS los parámetros mencionados anteriormente, es decir, si existió uno o más de los siguientes:

1. Ausencia de células endocervicales o de la zona de transformación

Es decir: menos de 10 células endocervicales o de metaplasia en el total del extendido ya sea CC o CBL.

2. Celularidad escasa (<8.000 en CC y < 5.000 en CBL)

### **CITOLOGÍA CONVENCIONAL**

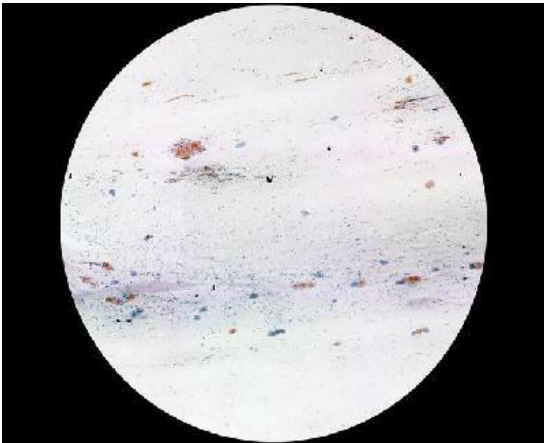


Fig 14 Campo de 4X  
Celularidad INADECUADA

### **CITOLOGIA DE BASE LÍQUIDA**

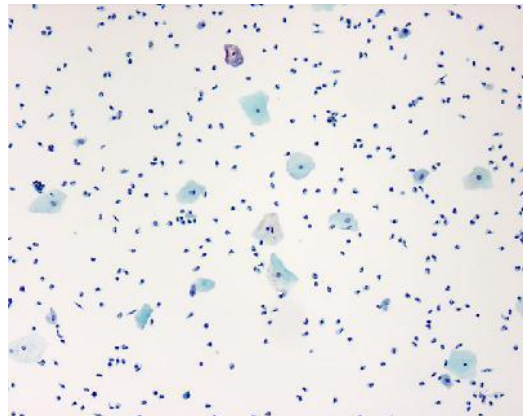
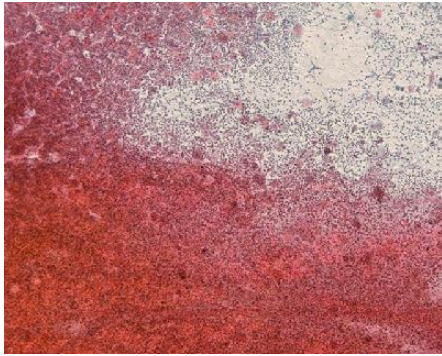
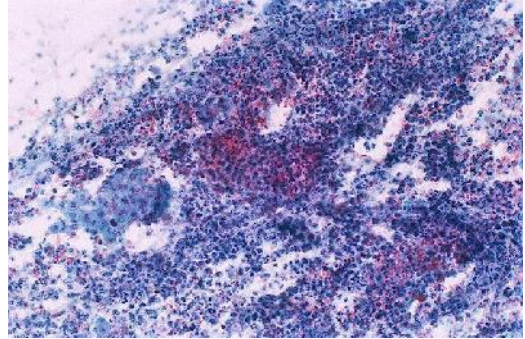


Fig 15 Campo de 40X con menos de 8 células escamosas bien conservadas y visibles. Si todos los campos son iguales a este la celularidad será INADECUADA

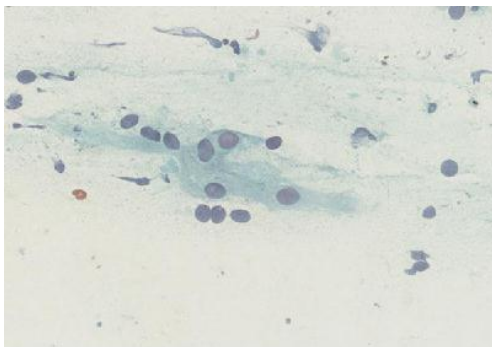
### 3. Obscurecimiento en >75% del extendido



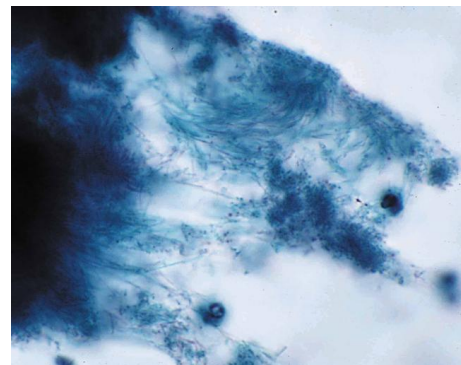
*Fig 16 Campo de 4X Citología Convencional*  
Muestra INSATISFACTORIA por obscurecimiento >75%  
por sangre e inflamación (PMN)



*Fig 17 Campo de 4X Citología Convencional*  
Muestra INSATISFACTORIA por  
obscurecimiento >75% por PMN



*Fig 18 Campo de 4X Citología Convencional*  
Muestra INSATISFACTORIA por obscurecimiento >75%  
por artefacto de técnica tipo desecamiento.



*Fig 19 Campo de 4X Citología Convencional*  
Muestra INSATISFACTORIA por  
obscurecimiento >75% por Actinomyces y  
reacción inflamatoria PMN

Para la lectura de las laminillas de nuestro estudio se explicó los detalles del formulario a los dos observadores, se aclaró cualquier duda y se receptó opiniones al respecto llegando finalmente a un consenso.

La evaluación en sí se realizó con un microscopio de luz binocular marca Olympus® (Latin America Inc.) utilizando el objetivo de 10x para toda la laminilla. Los observadores podían decidir cambiar a los lentes de mayor aumento una vez terminada la evaluación y solo en las áreas en las que se haya visualizado anormalidades celulares o haya sido de difícil observación.

Cada patólogo inició su evaluación en una esquina de la laminilla y avanzó campo a campo transversal o verticalmente de manera sistemática (técnica de almena), hasta que la totalidad del área bajo el cubreobjetos haya sido revisada de la siguiente manera:

Fig 20 Técnica de evaluación de laminillas citológicas.



Utilizando el lente de 10x, estimamos que los evaluadores examinaron aproximadamente 250 a 300 campos al revisar una sola laminilla.

No existió tiempo límite para la evaluación de las laminillas.

Mediante un cronómetro marca Control Company modelo 5001 (Traceable®Timer) esta autora tomó el tiempo en minutos y segundos que cada patólogo empleó para la lectura de cada laminilla y lo escribió en el acápite correspondiente del formulario. Una vez terminada la evaluación, la misma autora anotó cuales parámetros fueron positivos y negativos, llegando finalmente a la conclusión de si la muestra fue o no satisfactoria con respecto a su calidad.

Se consideró como insatisfactoria, toda laminilla que en una o ambas observaciones, no cumplió con todos los parámetros del sistema Bethesda como indicamos anteriormente (20).

Para la evaluación de concordancia de los hallazgos entre CBL y CC se empleó el estadístico kappa de Cohen y PABAK (programa DAG\_Stat) (39) se utilizó además los intervalos de confianza al 95%.

En el total de las laminillas clasificadas como insatisfactorias, se identificó cual fue el parámetro que se ve afectado en mayor proporción tanto en CC como en CBL.

Con respecto al parámetro “Obscurecimiento” se identificó el factor que lo produce en mayor escala en cada una de las técnicas mediante la contabilización de las concordancias y discordancias entre los observadores.



Para comparar los tiempos de evaluación de las laminillas se utilizó una prueba  $t$  mediante el programa SPSS® versión 17.5. (© Copyright IBM Corporation 2010, Somers, NY). Se realizó además una prueba  $t$  adicional para comparar el tiempo de lectura de ambos observadores en cada técnica por separado y luego entre las dos técnicas.

## **CAPITULO IV:**

### **RESULTADOS:**

De las 120 laminillas de CBL evaluadas el 91,66% fueron catalogadas como satisfactorias por ambos observadores, en contraste con el 58,33% del total de 120 laminillas en la CC.

Las laminillas calificadas como insatisfactorias en CBL fueron el 8,3% y en CC 41,66% de la muestra de 120 laminillas en cada caso (Gráfico 4.1).

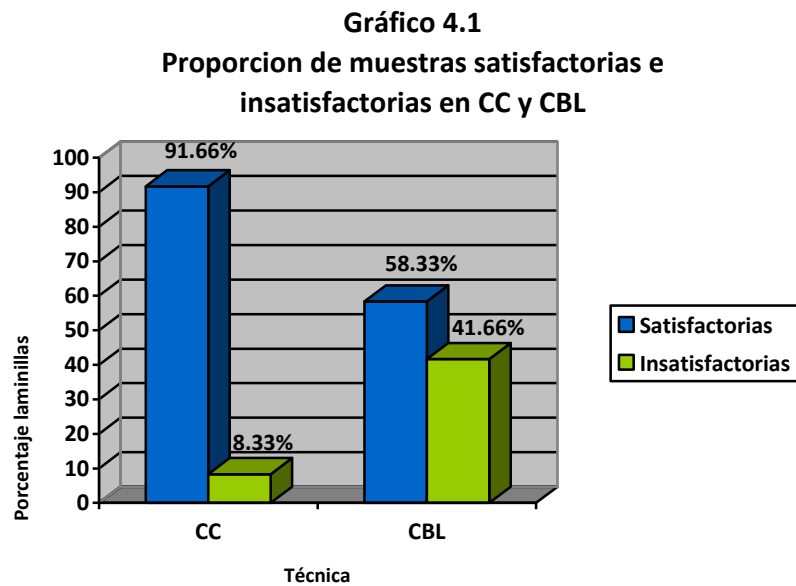


TABLA 4.1: Muestras Satisfactorias e Insatisfactorias según técnica		
	CBL	CC
Satisfactoria	110	70
Insatisfactoria	5	30
Insatisfactoria para 1 Obs	5	20

Concentrándonos solamente en las muestras insatisfactorias tenemos, como indicamos anteriormente, cuatro parámetros que podrían verse afectados (20):

- Presencia de células endocervicales.
- Celularidad adecuada (CBL: 8000-12000 y CC 5000-20000).
- Extendido en monocapa.
- Obscurecimiento por moco, sangre o polimorfonucleares (PMN) en menos del 75% de la muestra.

TABLA 4.2: Muestras insatisfactorias en CC y CBL según Sistema Bethesda y según observador.				
	CBL		CC	
Técnica	Obs 1	Obs 2	Obs 1	Obs2
Ausencia Celulas Endocervicales	5	5	13	15
Celularidad Escasa	3	1	10	8
Ausencia de monocapa	1	1	2	2
Obscurecida >75%	1	2	22	24
Total laminillas insatisfactorias	8	7	38	42

En la tabla 4.2 se observa que en CC el parámetro de insatisfactoriedad más usual según ambos observadores es el obscurecimiento, seguido de la ausencia de células endocervicales y de la celularidad escasa. En contraste con la CBL donde el parámetro más frecuente es la ausencia de células endocervicales y el obscurecimiento no es tan predominante.

Se considera “obscurecimiento” cuando la laminilla está cubierta en más del 75%, siendo posible encontrar polimorfonucleares (PMN), moco, sangre o artefactos de técnica (20). De acuerdo a estos parámetros se contabilizó las concordancias y discordancias para identificar el parámetro de obscurecimiento más importante en cada técnica.

Dos laminillas se calificaron como insatisfactorias por obscurecimiento en CBL y ambas se debieron a PMN. La concordancia con respecto a éste parámetro fue del 50%.

En la CC, 29 placas se calificaron como insatisfactorias por obscurecimiento, encontrándose, en la gran mayoría, dos o más parámetros presentes en la misma laminilla.

TABLA 4.3: Concordancias y Discordancias en laminillas obscurecidas en CC			
	Concordancias	Discordancias	Total
PMN	11	9	20
Moco	1	13	14
Sangre	3	5	8
Artefactos Técnica	4	2	6

Se identificó a los PMN como el parámetro más importante de obscurecimiento.

En cuanto al moco, de las 14 muestras que presentaron este parámetro, encontramos 13 discordancias lo que demuestra una alta discordancia entre los observadores.

#### **Citología de Base Líquida (CBL):**

Los resultados para la CBL se resumen en la tabla 4.4 que se utilizó posteriormente para los cálculos estadísticos necesarios. Donde Obs 1: Observador 1 y Obs 2: Observador 2.

TABLA 4.4: Concordancia entre Observadores para CBL							
		Obs 1			Kappa	p ≤	PABAK
		Satisfactoria	Insatisfactoria	Total			
Obs 2	Satisfactoria	110	2	112	0,64 (0,35 – 0,93)	0,000	0,91
	Insatisfactoria	3	5	8			
	Total	113	7	120			

Los valores demuestran concordancia significativa con respecto a la calidad de la muestra entre ambos observadores.

**Citología Convencional (CC):**

Los resultados para la CC se resumen en la tabla 4.5 que se utilizó posteriormente para los cálculos estadísticos necesarios. Donde OBS 1: Observador 1 y OBS 2: Observador 2.

TABLA 4.5: Concordancia entre Observadores para CC							
		Obs 1			Kappa	$p \leq$	PABAK
		Satisfactoria	Insatisfactoria	Total			
Obs 2	Satisfactoria	71	12	83	0,64 (0,47 - 0,77)	0,000	0,88
	Insatisfactoria	7	30	37			
	Total	78	42	120			

Los valores demuestran concordancia significativa con respecto a la calidad de la muestra entre ambos observadores.

## TIEMPO DE LECTURA DE LAMINILLAS:

### Citología de Base Líquida (CBL):

En cuanto al tiempo de lectura de las laminillas fue 45,7 segundos  $\pm$  12,48 de media.

TABLA 4.6: Medidas de tendencia central, dispersión y distribución en CBL						
	Media (DE)	Varianza	Rango	Mediana	Kurtosis	Asimetría
CBL	45,74 ( $\pm$ 12,48)	155,82	59	45	0,25	0,62

El Observador 1 se demoró una media de 44,53 segundos y el observador 46,94 segundos en evaluar cada laminilla. La diferencia no resultó significativa.

TABLA 4.7: Media según observador y prueba $t$ para CBL			
Obs 1	Obs 2	$t$	p =
44,5 ( $\pm$ 16,7)	46,9 ( $\pm$ 11,8)	1,77 (0,2 – 5,0)	0,079

Es importante detallar los valores máximo y mínimo que se obtuvieron en la serie de datos: 80 y 21 segundos respectivamente, ya que nos indican, que el tiempo máximo esperado para la lectura de una laminilla en CBL es de 1 min 20 segundos y el mínimo es de 21 segundos.

### **Citología Convencional (CC):**

En cuanto al tiempo de lectura de las laminillas fue 45,7 segundos  $\pm$  12,48 de media.

TABLA 4.8: Medidas de tendencia central, dispersión y distribución en CC						
	Media (DE)	Varianza	Rango	Mediana	Kurtosis	Asimetría
CC	115,30 ( $\pm$ 30,17)	910,62	167	112.5	1,49	1,12

El Observador 1 se demoró una media de 110,26 segundos y el observador 119,53 segundos en evaluar cada laminilla. La diferencia resultó significativa.

TABLA 4.9: Media según observador y prueba t en CC			
Obs 1	Obs 2	<i>t</i>	p =
110,26 ( $\pm$ 42,2)	119,53 ( $\pm$ 34,96)	2,15 (0,7 – 17,8)	0,033

Los valores máximo y mínimo en la serie de datos fueron 225 y 58 respectivamente lo cual indica que en la CC, el tiempo máximo esperado para la lectura de una laminilla es de 3 min 45 segundos y el mínimo es de 58 segundos.

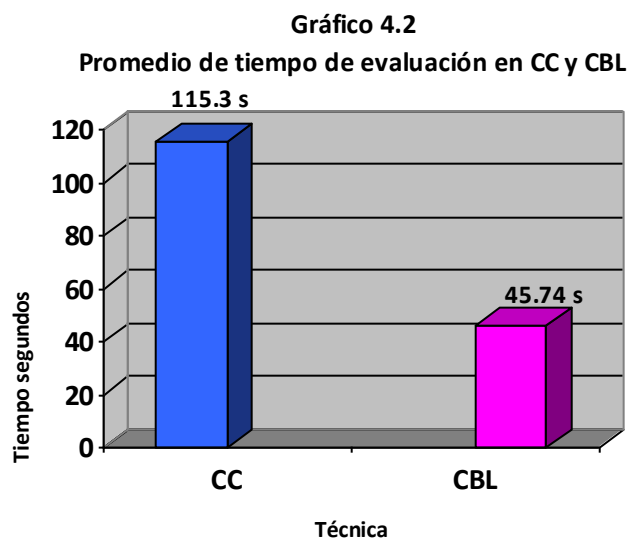


### Comparación entre CBL y CC:

Se observó una gran diferencia entre la media del tiempo de lectura de cada técnica la cual fue significativa en la prueba  $t$ .

TABLA 4.10: Media según técnica y prueba $t$ comparando CBL y CC			
CBL	CC	$t$	p =
45,74 ( $\pm 12,48$ )	115,30 ( $\pm 30,17$ )	23,29 (63,64 – 75,47)	0,000

El gráfico 4,2 demuestra la gran diferencia entre los tiempos de lectura en cada una de las técnicas. De 115,30 a 45,74 segundos existe una disminución general del 39,6% en el tiempo de lectura.



**Comparación entre CBL y CC según cada observador:**

En la prueba  $t$  se encontró diferencia significativa en el tiempo de lectura que los observadores utilizaron para cada técnica.

TABLA 4.11: Comparación de CBL y CC según Observador				
	CBL	CC	$t$	p =
Obs 1	44,53	111,06	16,6 (58,58 – 74,46)	0,000
Obs 2	46,94	119,53	20,6 (65,73 – 79,44)	0,000

## **CAPITULO V:**

### **DISCUSIÓN:**

La satisfactoriedad e insatisfactoriedad de las muestras en la citología ginecológica contribuye en gran medida a la precisión y consistencia de la evaluación por parte del médico patólogo y ésta, a su vez, depende directamente de la técnica utilizada en la toma de la muestra y su procesamiento en el laboratorio.

Desde que la CBL fue introducida, los estudios comparativos han mostrado las ventajas que puede ofrecer sobre la CC, aportando por un lado, mayor sensibilidad y especificidad como método diagnóstico para identificar LIE de alto y bajo grado (13,14,15) y por otro lado, reduciendo el porcentaje de laminillas insatisfactorias a la mitad de lo que usualmente se presentaba (11) y en algunas fuentes disminuyéndolas hasta en un 11% (12).

En nuestro estudio, al evaluar la calidad de la muestra, ambos observadores demostraron una buena concordancia tanto en CC y CBL, obtuvimos un porcentaje de insatisfactoriedad de 8,3% en CBL frente a 41,6% en CC, éste último concuerda con varios estudios similares que demostraron alta cantidad de muestras insatisfactorias en preparados convencionales. (11,12)

La proporción de laminillas insatisfactorias en CC de nuestros resultados fue alarmante, puesto que casi constituye la mitad de la muestra recogida. Basándonos en los

estándares del Sistema Bethesda (20) y el *National Cancer Institute* todas estas laminillas deberían ser devueltas al médico clínico para que la toma de la muestra sea repetida. Esto significaría en primer lugar, una nueva molestia para la paciente y en segundo lugar, un desperdicio de recursos tanto para los médicos como para el laboratorio.

En nuestro país no se realiza la retroalimentación mencionada debido a que no se encuentra debidamente protocolizado ni regulado el manejo de las laminillas insatisfactorias.

Con respecto a la CBL; 8,3% de muestras insatisfactorias es un porcentaje mayor al obtenido en otros estudios comparables con el nuestro, en los que oscila entre 1,5% y 2% (12,40). Nos aventuramos a decir que esta proporción puede deberse a errores en la toma de la muestra, situación que requeriría un control de calidad actualizado en el laboratorio donde se realizó este estudio.

Un estudio publicado en el 2007 por Jhala D. y Eltoum I., identificó al desecamiento por aire y al obscurecimiento por PMN como los dos agentes de insatisfactoriedad más importantes en la CC (40). En nuestra investigación obtuvimos resultados muy similares, siendo el parámetro que más se repite, el obscurecimiento en >75% del extendido de la CC y dentro de éste, los observadores coincidieron sobremedida en la identificación de PMN, no así en la presencia de moco que fue

identificado en proporciones discordantes. Consideramos que este último factor pudo producir confusión en las laminillas de CC al momento de su evaluación.

En el mismo estudio antes mencionado, se indica que el desecamiento por aire es un hallazgo extremadamente raro en la CBL. Nuestro estudio no identificó ninguna laminilla alterada por este factor, verificándose la literatura señalada. Por otro lado, de las 120 laminillas de CBL, tan solo dos se calificaron como obscurecidas en >75% del extendido, ambas por PMN. En ninguno de nuestros extendidos de CBL se encontró moco, sangre u otros artefactos de técnica, lo cual ratifica la bibliografía que expresa un mínimo obscurecimiento en las preparaciones de base líquida (8).

Lastimosamente, no tenemos conocimiento de estudios adicionales que describan, específicamente cuál es el parámetro más usual para que una muestra sea calificada como insatisfactoria en CBL. Nuestros resultados sitúan a la ausencia de células endocervicales como el primero en nuestra lista con escasas 5 laminillas. Esto puede deberse al tipo de cepillo utilizado (Cervexbrush®) cuya zona central podría no haber sido completamente introducida en el orificio cervical externo y haber fallado en la exfoliación de las células endocervicales. Sin embargo, nuestro estudio también reveló que en la CC, la ausencia de células endocervicales fue el segundo factor más usual de insatisfactoriedad, lo cual podría indicarnos una dificultad en ambos métodos para alcanzar correctamente el epitelio endocervical, independientemente del instrumento utilizado.

Con respecto al tiempo de lectura de las laminillas, Williams et al, (12) afirma que la CBL requiere hasta un 40% menos que la CC. En nuestro estudio se observó una diferencia sustancial entre las dos técnicas en este parámetro, es así que los observadores alcanzaron tiempos promedios de 45,7 segundos en CBL y de 115,3 segundos en CC mostrando una disminución del 39,6% en el tiempo de evaluación de cada laminilla concordante con la literatura investigada.

La prueba *t* identificó diferencia significativa en el tiempo de lectura de los observadores en la CC, esto indica que uno de ellos necesitó menos tiempo para evaluar cada laminilla. Al contrario, en la CBL esta diferencia no fue significativa. Puesto que ambos evaluadores contaban con la misma experiencia en la valoración de laminillas citológicas, se realizó una comparación de las dos técnicas con cada observador por separado y se confirmó la diferencia del tiempo utilizado entre CC y CBL independientemente del observador.

## **CAPITULO VI:**

### **CONCLUSIONES:**

- Se demostró concordancia interobservador al evaluar la calidad de la muestra tanto para CC como para CBL.
- Evidenciamos que en las preparaciones de CBL se identifica mejor la calidad de la muestra que en los frotis de CC.
- En la CBL se observó una disminución en el tiempo de lectura del 39,6%, que es comparable al 40% postulado en nuestra hipótesis. Por lo tanto nuestros resultados demuestran la superioridad de la CBL sobre la CC en este parámetro.
- Para la CBL se identificó a la ausencia de células endocervicales como el factor de insatisfactoriedad más importante.
- En la CC se identificó al obscurecimiento como el factor más importante que produce laminillas insatisfactorias y que éste es debido especialmente a la presencia de PMN.
- En la CC la presencia de moco obtuvo fuerte discordancia entre los observadores pudiendo ser un factor de confusión al momento de la evaluación.

## **RECOMENDACIONES:**

- La valoración de la calidad de la toma de la muestra debe realizarse permanentemente y de manera paralela a la valoración de los laboratorios de citología y la calidad del trabajo de los citotecnólogos y patólogos, para tener la certeza de que los resultados obtenidos en la evaluación de la calidad de toma de las muestras son confiables.
- Debe protocolizarse y regularse el manejo de las laminillas insatisfactorias para que exista una retroalimentación con el médico clínico y de esta manera disminuir los errores al momento de la toma de la muestra, fijación y traslado especialmente en CC.
- Se recomienda que todos los laboratorios cuenten con un sistema de control de calidad en TODAS las muestras mediante la doble evaluación de las laminillas citológicas por dos observadores diferentes, de este modo se comprueba la satisfactoriedad de las muestras y confiabilidad de los diagnósticos, elevando los estándares del laboratorio.
- Creemos adecuado realizar en el futuro, estudios que permitan determinar si el método actual de tamizaje masivo (CC), es en realidad costo-efectivo o, si por el contrario, debido a su gran cantidad de muestras insatisfactorias y su baja sensibilidad se requieren repeticiones del frotis o realizar nuevas pruebas más costosas que incrementarían el gasto por persona y por año.



## **BIBLIOGRAFIA:**

1. **Oddó B. David. MD.** Vida y obra de uno de los médicos más conocidos del siglo XX Boletín de la Sociedad Chilena de Anatomía Patológica 2006, 1: 5-6.
2. **Ferlay J, Bray F, Sankila R, Parkin D.** Cancer incidence, mortality and prevalence in the European Union. IARC CancerBase N° 5, version 2.0, 2004. [En línea] <http://www-dep.iarc.fr/eucan/eucan.htm> (15/12/2010).
3. **Serman F.** Cáncer Cervicouterino: Epidemiología, historia natural y rol del virus papiloma humano perspectivas en prevencion y tratamiento. Rev Chil Obstet Ginecol 2002, 67: 318-323.
4. **Lewis M.** Análisis de la situación del cáncer cérvico-uterino en América Latina y el Caribe. OPS. Washington, DC, 2004.
5. **Taylor S, Kuhn L, Dupree W, Denny L, De Souza M, Wright TC Jr:** Direct comparison of liquid-based and conventional cytology in a South African screening trial. International Journal of Cancer 2006, 118 : 957-962.
6. Screening for Cervical Cancer. What's New from the USPSTF? AHRQ 2003; APPIP03-0004, pags: 4-5 [En línea] [www.ahrq.gov/clinic/3rduspstf/cervcan/cervcanwh.htm](http://www.ahrq.gov/clinic/3rduspstf/cervcan/cervcanwh.htm) (16/12/2010).
7. **Ricci P, Perucca E, Koljanin J, Baeriswyl E.** Citología De Base Líquida: Revisión De La Historia Y Los Estudios Al Respecto. Rev Chil Obstet Ginecol 2004; 69: 256-262.
8. **Siebers AG, Klinkhamer P, Grefte J, Massuger L, Vedder J, Bulten J, Arbyn A,** Comparison of Liquid-Based Cytology with Conventional Cytology for Detection of

Cervical Cancer Precursors A Randomized Controlled Trial. JAMA. 2009; 302: 1757-1764.

9. **Thomas P.** Comprehensive Cytopathology. 3ra edición. Philadelphia, Ed. Saunders. 1992 pag: 115.
10. **Karnon J, Peters J, Platt J, Chilcott J, McGoogan E, Brewer N.** Liquid-based cytology in cervical screening: An updated rapid and systematic review and economic analysis. Health Technol Assess 2004, 8:20.
11. **Davey E, D'Assuncao J, Irwig L, Macaskill P, Chan S, Richards A, Farnsworth A.** Accuracy of reading liquid based cytology slides using the ThinPrep Imager compared with conventional cytology: prospective study. BMJ 2007, 335:31.
12. **Williams A.R.W.** Liquid-based cytology and conventional smears compared over two 12-month periods. Cytopathology 2006, 2 : 82-85.
13. **Montero G, Mora R, Valdés J., Wiscovitch R., Picans S., Picans J.** Papanicolau vs Citología Liquida (citofem ®) En el laboratorio praeventio, San José, Costa Rica el año 2003 al 2009. Revista de la Facultad de Medicina Universidad de Iberoamérica, UNIBE 2010; 2: 1.
14. **Chhieng DC, Talley LI, Roberson J, Gatscha RM, Jhala NC, Elgert PA.** Interobserver variability: Comparison between liquid-based and conventional preparations in gynecologic cytology Departamento de Patología, Cancer. 2002, 96 : 67-73.

15. **BIOCLAS** Avances en el diagnóstico de cáncer de cervix – Citología de Base líquida - CBL [En línea] [www.bioclas.cl/intranet/cbl/Bioclas%20-%CBL.pdf](http://www.bioclas.cl/intranet/cbl/Bioclas%20-%CBL.pdf) (16/12/2010).
16. **Ferlay , Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin D** GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, IARC CancerBase, No. 5. Version 2.0.
17. **Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin D.**GLOBOCAN 2008, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [En Línea: <http://globocan.iarc.fr/>] (fecha acceso: 15/12/2010).
18. **Pino M., Albán M.** Análisis de la situación del cáncer de cérvix uterino en el Ecuador, 2006. Rev Esp Patol 2008, 41: 41-47.
19. **Albújar P.** Reseña Histórica de la Citología Diagnóstica. Rev Per Ginecol Obst 2001, 47: 2.
20. **Solomon D, Nayar R.** El Sistema Bethesda para informar la citología cervical. Definiciones, criterios y notas aclaratorias. Ed. Journal. Buenos Aires. 2005, Pags: 1-20.
21. **Schiffman M, Solomon D.** Findings to Date From the ASCUS-LSIL Triage Study (ALTS). Arch Pathol Lab Med. 2003; 8: 946-949.
22. **Vatanasapt V.** Dispositivos de recolección de muestras citológicas cervicales: Comentario de la BSR. La Biblioteca de Salud Reproductiva de la OMS; Ginebra: 2002. [En Línea: <http://apps.who.int/rhl/gynaecology/cancer/vvcom/es/index.html>] (03/01/2011).

23. **Martin-Hirsch P, Jarvis G, Kitchener H, Lilford R.** Dispositivos de recolección de muestras citológicas cervicales (Revisión Cochrane traducida). En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2008 Número 4.
24. **Prey M, Abdul-Karim D.** Citopatología Ginecológica. En: Atkinson B. editora. Atlas de Diagnóstico Citopatológico. Ed. Elsevier. Madrid. 2005. Pags 31-103.
25. **Toledo M, Cortijo C.** Manual de procedimientos diagnóstico en citología cérvico uterina. Serie de Normas Técnicas N° 43. Lima. ISN 2005, Págs.: 24-47.
26. **Hidalgo M.** Manual de Procedimientos. Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Primera Edición 2006. México 2006 pàgs: 13-60.
27. **Soost H, Lange H, Lehmacher W, Ruffing-Kullmann B.** The validation of cervical cytology. Sensitivity, specificity and predictive values. Acta Cytol 1995, 35: 8-14.
28. **Mayeaux E, Harper M, Abreo F, Pope J, Phillips S.** A comparison of the reliability of repeat cervical smears and colposcopy in patients with abnormal cervical cytology. Journal of Family Practice, 1995, 40: 1.
29. **Arbyn M, Herbert A, Schenck U, Nieminen P, Jordan J, Mcgoogan E, Patnick J, Bergeron C, Baldauf J-J, Klinkhamer P, Bulten J, Martin-Hirsch P.** European guidelines for quality assurance in cervical cancer screening: recommendations for collecting samples for conventional and liquid-based cytology Cytopathology 2007; 18: 133–139.
30. **Rodriguez J.** Manual de Procedimientos para Citología en Base Líquida Monocapa®. Departamento de Asesoría Técnica en Laboratorio, MAKOL OCR S.A. Costa Rica 2008: Pags 6.27.

31. **Saenz J, Fernández I, Fernández J, López D.** Citología en medio líquido. Conceptos generales e indicaciones. X Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica. . [En Línea: [http://www.conganat.org/10congreso/trabajo.asp?id\\_trabajo=1794&tipo=3](http://www.conganat.org/10congreso/trabajo.asp?id_trabajo=1794&tipo=3)] (20/Ene/2011).
32. Surepath™ Vial Preservative - Material Safety Data Sheet Acc to ISO/DIS 11014. Revisado en Diciembre del 2008. Pag 1-7. [En Línea: [http://petersonlab.pdswebpro.com/petersonlab\\_pdswebpro\\_com/File/Surepath\\_Vial\\_Preservative.pdf](http://petersonlab.pdswebpro.com/petersonlab_pdswebpro_com/File/Surepath_Vial_Preservative.pdf)] (19/Ene/2011).
33. **Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsch P, Siebers AG, Bulten J.** Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and metaanalysis. *Obstet Gynecol* 2008, 111: 167-177.
34. **Buitrón R.** Técnicas de Análisis de Datos en Epidemiología y Bioestadística. PUCE 2003 Cap 1, Págs.: 6-11.
35. **Dawaon-Saunders B, Trapp R.** Bioestadística médica. Ed. Manual Moderno. México 1993. Cap 2, Pags 7-20.
36. **Wayne W.** Bioestadística: Base para el análisis de las Ciencias de la Salud. Ed Limusa. México. 1980 págs: 141 – 143.
37. **Helsinki, Declaración.** Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial 2008. Sección B, literal 23.
38. NCI Bethesda System web Atlas. American Society of Cytopathology [En Línea: <http://nih.techriver.net/bethesdaTable.php>] (26/Ene/2011).

39. **Mackinnon, A.** A spreadsheet for the calculation of comprehensive statistics for the assessment of diagnostic tests and inter-rater agreement. *Computers in Biology and Medicine*, 2000 30; 127-134.
40. **Jhala D, Eltounm I.** Barriers to adoption of recent technology in cervical screening. *CytoJournal* 2007; 4: 16.

# **ANEXOS:**

## ANEXO 1

Formulario para recopilación de datos

### CITOLOGÍA DE BASE LÍQUIDA

<b>Evaluador</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Laminilla #</b>	<b>CBL</b>
<b>Tiempo de Lectura</b>	<b>min</b>		<b>segs</b>	
<b>CALIDAD DE LA MUESTRA</b>				
	<b>SI</b>		<b>NO</b>	
<b>Presencia de celulas endocervicales</b>				
<b>5000 a 20000 células bien conservadas</b>				
<b>Extendido en Monocapa</b>				
<b>Muestra obscurecida menos del 75%</b>				
<b>Hematíes</b>				
<b>Polimorfonucleares</b>				
<b>Moco</b>				
<b>MUESTRA SATISFACTORIA</b>				
<b>MUESTRA LIMITADA</b>				
<b>Comentario</b>				



## ANEXO 2

Formulario para recopilación de datos

### CITOLOGÍA CONVENCIONAL

<b>Evaluador</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>Laminilla #</b>	<b>CC</b>
<b>Tiempo de Lectura</b>	<b>min</b>		<b>segs</b>	
<b>CALIDAD DE LA MUESTRA</b>				
		<b>SI</b>	<b>NO</b>	
<b>Presencia de celulas endocervicales</b>				
<b>8000 – 12000 células bien conservadas</b>				
<b>Extendido en Monocapa</b>				
<b>Muestra obscurecida menos del 75%</b>				
<b>Hematíes</b>				
<b>Polimorfonucleares</b>				
<b>Moco</b>				
<b>MUESTRA SATISFACTORIA</b>				
<b>MUESTRA LIMITADA</b>				
<b>Comentario</b>				

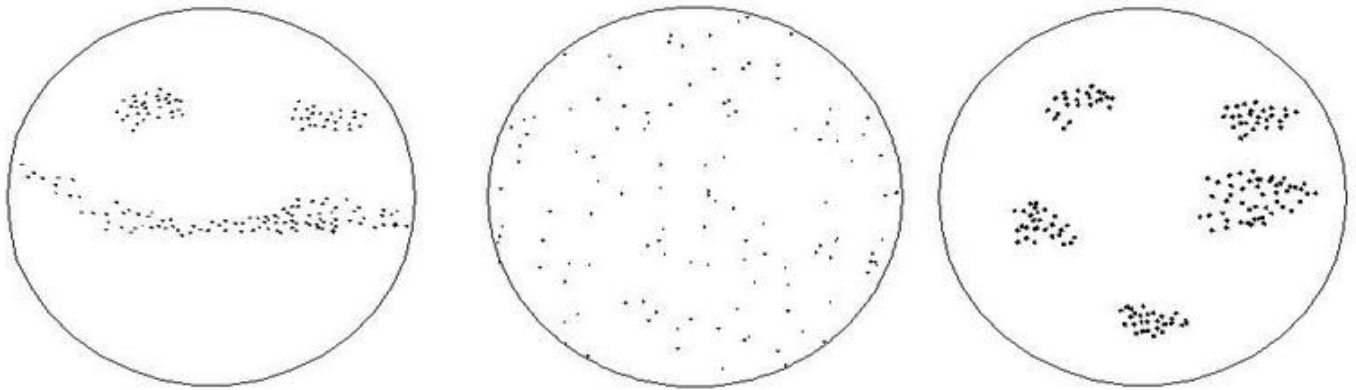
### ANEXO 3

Tabla A1: Lineamientos para calcular la celularidad en CBL*									
		Ocular FN20/ Objetivo 10X		Ocular FN20/ objetivo 40X		Ocular FN22/objetivo 10X		Ocular FN22/objetivo 40X	
Diámetro de la Preparación (mm)	Área (mm <sup>2</sup> )	# campos en FN20 10X	# céls/campo para 5K	# campos en FN20 40X	# céls/campo para 5K	# campos en FN22 10X	# céls/campo para 5K	# campos en FN22 40X	# céls/campo para 5K
13	132,7	42,3	118,3	676	7,4	34,9	143,2	559	9
20	314,2	100	50	1600	3,1	82,6	60,5	1322	3,8

\* Obtenido de: **Solomon D, Nayar R.** El Sistema Bethesda para informar la citología cervical. Definiciones, criterios y notas aclaratorias Ediciones Journal. Buenos Aires. 2005. Pag 8

#### **ANEXO 4:**

**Otros esquemas representativos para calcular la celularidad:**



Objetivo: 4X

Ocular: 10X

Cada campo contiene aprox 157 células escamosas. Si se encontraran estos patrones en toda el extendido, se calcula que habrá un total de 10.000 células.